

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	神経細胞は何故分裂しないのか？：神経幹細胞の増殖と未分化性維持のシグナル交差点
Author(s)	鹿川, 哲史
Citation	
Issue date	2007-04
Type	Research Paper
URL	http://hdl.handle.net/2298/3421
Right	

神経細胞は何故分裂しないのか？

・神経幹細胞の増殖と未分化性維持のシグナル交差点

1 7 5 0 0 2 5 5

平成 1 7 年度～平成 1 8 年度科学研究費補助金

(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 1 9 年 4 月

研究代表者 鹿川哲史

熊本大学発生医学研究センター助教授

はしがき

中枢神経系の初期発生では、神経幹細胞や神経前駆細胞が盛んに細胞分裂を繰り返している。本研究では、まず神経前駆細胞の分裂を促進する Wnt シグナリングの作用について詳細に検討した。これまでの報告では用いた実験系により Wnt が神経前駆細胞の分裂を促進させるというものと、分裂を止めてニューロン分化を促進するという報告があり、見解が二分していた。そこで、本研究では Wnt 以外のシグナルを出来るだけ排除するため化学合成培地に Wnt3a 蛋白質を添加した初代培養系細胞を用いることとした。代表的な Wnt リガンドである Wnt3a の遺伝子ノックアウトマウスや Wnt シグナリング下流で活性化される転写因子 TCF1・Lef1 のダブルノックアウトマウスは著しい海馬発生障害を示すことから、海馬前駆細胞には Wnt 受容体以下のシグナル経路が存在していることが知られていた。そこで本研究の初代培養系には胎生マウスの海馬前駆細胞を用いた。マウス胎生 15 日胚より調製した海馬初代培養系に Wnt3a を 4 日間添加すると非添加群に比べ総細胞数が 1.4 倍に増加した。一方、Tuj1 陽性神経細胞数も 1.4 倍に増えており、Wnt3a が「細胞増殖」と「神経細胞分化」を同時に促進する一見矛盾した実験結果となった。ハエや線虫を用いた研究では Wnt は非対称性分裂を促進することが報告されている。仮に Wnt3a が海馬初代培養細胞の非対称性分裂を促進すれば増殖と分化の両立も可能と考えられたので、海馬由来の神経グリア前駆細胞を低力価 GFP レトロウイルスで標識し、各クローンの細胞系譜を Wnt3a 添加・非添加群で比較した。しかし、いずれの群も 1 個の神経細胞と 1 個の未分化細胞を産生する非対称性分裂は約 15%、2 個の神経細胞を生む対称性分裂が約 33%、2 個の未分化細胞を生む対称性分裂が約 50% 程度と顕著な差は無かった。残された可能性を探索し GFP レトロウイルスと BrdU の二重標識により細胞分裂速度を測定した。Wnt3a 添加群では細胞周期の最頻値 (mode) が約 2 時間短縮され、Wnt3a に細胞分裂速度促進作用があることが明らかとなった。Wnt3a は細胞周期を短縮し一定培養期間における細胞分裂回数を増やすことによって総細胞数と神経細胞数の両方を増加させることが考察された。この様な神経前駆細胞の増殖を促進する Wnt の作用は網膜前駆細胞の初代培養系においても確認された。

さて、Wnt などの作用により神経前駆細胞は増殖するが、増殖中の細胞はニューロンの分化マーカーを発現しない。分裂を停止すると直ちにニューロ

ンへ分化し、一度分化したニューロンは分裂しない。この様に、細胞が分裂することと未分化状態を維持するという2つの事象をカップルさせる細胞内シグナルの交差点があると考えられるが、意外にもその分子機序はわかっていなかった。そこで、次に、細胞周期エンジンとニューロン分化のシグナル・クロストークに焦点を当て、その分子機構を解析した。FGF2 や Wnt は、おのおの特異的な受容体に結合して細胞内にシグナルが伝えるが、2つの因子は共通して、細胞の増殖を促進しながら一方では細胞の分化を抑制する共通の性質が知られている。我々は、まず GSK3 β が Wnt と FGF2 シグナリングに共通の標的分子であり、細胞周期チェックポイントを調節していることを明らかにした。さらに、神経前駆細胞を FGF2 刺激すると、GSK3 β の活性に依存して、分化抑制因子である HES1 及び HES5 遺伝子の発現量が変化することを見いだした。これには GSK3 β の下流で働く β カテニンが Notch/RBPJ 転写因子の共役活性化因子として深く関わっていた。すなわち、神経前駆細胞において Wnt や FGF2 シグナル経路が活性化されると GSK3 β が不活性化され β カテニン量が核内に蓄積する。核内 β カテニンは LEF/TCF 転写因子の共役活性化因子として細胞増殖を促進すると同時に、Notch/RBPJ 転写因子の共役活性化因子としてニューロン分化を阻害する Hes 転写因子の発現を増強する。この様に、本研究では Wnt と FGF2 シグナリングによる神経前駆細胞の細胞増殖を促進とその未分化維持の parallel regulation を可能にする分子メカニズムの一つのモデルとして提唱した。

研究組織

研究代表者：鹿川哲史（熊本大学発生医学研究センター助教授）

研究分担者：清水健史（熊本大学発生医学研究センターCOE リサーチアソシエート）

（研究協力者：田賀哲也）

（研究協力者：吉永豊）

（研究協力者：井上俊洋）

（研究協力者：あべ松昌彦）

（研究協力者：柏木太一）

（研究協力者：備前典久）

（研究協力者：寺本路子）

（研究協力者：齊木優子）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 1 7 年度	1,800,000	0	1,800,000
平成 1 8 年度	1,700,000	0	1,700,000
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究発表

（ 1 ）学会誌等

国際学術誌

Furusho, M, Ono, K, Takebayashi, H, Masahira N, **Kagawa, T**, Ikeda, K, Ikenaka, K. 2006. Involvement of the Olig2 transcription factor in cholinergic neuron development of the basal forebrain. Dev Biol. 293(2):348-357.

Nakahira, E, **Kagawa, T**, Goulding, M, Ikenaka, K. 2006. Direct Evidence that Ventral Forebrain Cells Migrate to the Cortex and Contribute to the Generation of Cortical Myelinating Oligodendrocytes. Dev Biol. 291(1):123-131.
(Corresponding Author)

Abematsu, M, **Kagawa, T**, Fukuda, F, Inoue, T, Takebayashi, H, Komiya, S, Taga, T. 2006. bFGF endows dorsal telencephalic neural progenitors with ability to differentiate into oligodendrocytes but not γ -aminobutyric acidergic neurons. J Neurosci Res. 83(5):731-743.

Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, **Kagawa, T**, Ishida T, Ishii Y, Yamada H. 2006. Fetal Pituitary Gonadotropin as an Initial Target of Dioxin in Its Impairment of Cholesterol Transportation and Steroidogenesis in Rats. Endocrinology. 147(2):927-936.

Inoue T, **Kagawa, T**, Fukushima M, Shimizu T, Yoshinaga Y, Takada S, Tanihara H, Taga T. 2006. Activation of canonical Wnt pathway promotes proliferation of retinal stem cells derived from adult mouse ciliary margin. Stem Cells. 24(1):95-104.

Shimizu T, **Kagawa, T**, Wada T, Muroyama Y, Takada S, Ikenaka K. 2005. Wnt signaling controls the timing of oligodendrocyte development in the spinal cord. Dev Biol 282(2):397-410. **(Corresponding Author)**

(2) 口頭発表

鹿川哲史 神経前駆細胞の増殖と分化を関連させる分子メカニズムの解析 頭部形成研究会 2007 年 2 月 27 日 ~ 29 日 (山形、国際蔵王高原ホテル)

鹿川哲史、清水健史、田賀哲也 細胞分裂と神経分化のシグナル連鎖 第 12 回グリアクラブ 2007 年 2 月 19 日 ~ 21 日 (北海道、東山プリンスホテル)

鹿川哲史 細胞分裂周期を調節する Wnt3a の新機能 生理学研究所バイオインフォマティクス研究会 2006 年 12 月 28 日 (岡崎、生理学研究所)

清水健史 神経幹細胞の増殖シグナルと分化抑制シグナルを連携させる分子機構の析 平成 18 年度神経発生討論会 2006 年 12 月 20 日 ~ 21 日 (岡崎、生理学研究所)

鹿川哲史、吉永豊、清水健史、井上俊洋、高田慎治、倉津純一、田賀哲也 細胞分裂周期を調節する Wnt3a の新機能 第 11 回グリア研究会ミニシンポジウム、2006 年 11 月 11 日 (東京、虎ノ門パストラル)

鹿川哲史、清水健史、井上俊洋、吉永豊、田賀哲也 A molecular basis of transition from proliferating neural precursor cells to differentiating neurons. 第 49 回日本神経化学会大会、第 28 回日本生物学的精神医学会、第 36 回日本神経精神薬理学会合同年会、2006 年 9 月 14 日 ~ 16 日 (名古屋、名古屋国際会議場)

清水健史 神経幹細胞単層培養法を用いた細胞外来性因子によるシグナル伝達研究 生理研研究会「神経科学の新しい解析法とその応用」 2005 年 9 月 15 日 ~ 17 日 (岡崎、生理学研究所)

鹿川哲史、清水健史、田賀哲也 神経上皮細胞が増殖から分化へスイッチする分子機構の解析、第 10 回グリア研究会ミニシンポジウム、2005 年 10 月 22 日 (大阪市、大阪大学中之島センター)

(3) 出版物

鹿川哲史・ニューロンとグリアの分化、 森寿、真鍋俊也、渡辺雅彦、岡野栄之、宮川剛編集 改訂第 2 版「脳神経科学イラストレイテッド」第 3 章 2 項, pp117-124, 2006.